Aus der Pharmakologischen Anstalt der Universität Basel
Vorsteher: Prof. Dr. H. Staub.

Wirkung von Histamin im Vergleich mit andern Aminen und Ammoniak auf Frosch und Froschherz.

Beitrag zu: „Chemische Konstitution und pharmakologische Wirkung".

Inaugural-Dissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
der
medizinischen Fakultät der Universität Basel
vorgelegt von

Karl Sigg
aus Basel.

Basel 1937.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546702_0112

Aus der Pharmakologischen Anstalt der Universität Basel
Vorsteher: Prof. Dr. H. Staub.

Wirkung von Histamin im Vergleich mit andern Aminen und Ammoniak auf Frosch und Froschherz.

Beitrag zu: „Chemische Konstitution und pharmakologische Wirkung".

Inaugural-Dissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
der
medizinischen Fakultät der Universität Basel
vorgelegt von

Karl Sigg
aus Basel.

Basel 1937.

Genehmigt

von der medizinischen Fakultät der Universität Basel

auf Antrag von Herrn Professor Dr. H. STAUB.

Tag der Promotion: 19. Dezember 1936.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Aus Archiv f. experiment. Path. u. Pharmakol. Bd. 185.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. H. Staub, Basel für seine Hilfe und das an der Arbeit gezeigte Interesse zu danken. Ebenso möchte ich Herrn Dr. Berger, Herrn Dr. Rothschild, Herrn Dr. Mezey und Herrn Theo Holbro, Basel, für ihre wertvollen Ratschläge bestens danken.

Aus der Pharmakologischen Anstalt der Universität Basel.
(Vorst. Prof. H. Staub.)

Wirkung von Histamin im Vergleich mit andern Aminen und Ammoniak auf Frosch und Froschherz.

Beitrag zu: „Chemische Konstitution und pharmakologische Wirkung".

Von

K. Sigg.

Mit 13 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. März 1937.)

Bei der Durchsicht der Literatur über die Wirkung des Histamins am Frosch stößt man sowohl bei den Angaben über die Wirkung am Ganztier, wie auch über die Wirkung auf isolierte Organe, auf ungenaue und sich widersprechende Angaben. Auch die zusammenfassende Darstellung von Feldberg und Schilf[1] über die Wirkung des Histamins am Froschherz und auf das Ganztier kommt nicht zu einheitlichem Ergebnis.

Nach einigen Autoren hat Histamin auf das Froschherz eine positiv inotrope, nach andern eine negativ inotrope Wirkung. Beresin[2] beschreibt eine Verstärkung der Herzaktion nach Histamin, während Guggenheim[3], Einis[4], Rothlin[5], Lio[6], Krull[7] eine Herabsetzung der Herzleistung sahen. Feldberg und Schilf[1] glauben, daß das saure Histamindihydrochlorid die aktuelle Reaktion der Ringerlösung nach der sauren Seite verschiebt, und dadurch die Herzleistung verschlechtert wird.

Die gleichen unklaren Verhältnisse bestehen auch bezüglich der Histaminwirkung am Ganzfrosch. Dale und Laidlaw[8] erreichen mit 60 mg Histaminchlorhydrat intravenös den Exitus im Verlaufe von 20—60 Minuten. Dies entspricht 1,7 g/kg Körpergewicht. Die letale Dosis liegt hier 3000mal höher als beim Meerschweinchen, bei dem schon 0,5 mg/kg einen tödlichen Schock hervorrufen. Feldberg und Schilf[9] betrachten daher den Exitus beim Frosch nicht als spezifische Histaminwirkung. Die eigentliche Todesursache ist nicht erklärt.

---

[1] Feldberg u. Schilf: Monographie über Histamin 1930, S. 345—348. — [2] Beresin: zit. nach Feldberg u. Schilf: Ebenda 1930, S. 345—348. — [3] Guggenheim, M.: Biochem. Z. **51**, 369 (1913). — [4] Einis, W.: Ebenda **52**, 96 (1913). — [5] Rothlin, E.: Pflügers Arch. **185**, 111 (1920). — [6] Lio: Arch. int. de pharmacodyn. **33**, 409 (1928). — [7] Krull: zit. nach Feldberg u. Schilf: „Histamin", S. 346. — [8] Dale, H. H. u. Laidlaw: J. of Physiol. **41**, 318 (1911). — [9] Feldberg u. Schilf: „Histamin", S. 90.

Versuche am isolierten Froschherz (Methode Straub).

Histamindihydrochlorid hat am Froschherz nie eine fördernde Wirkung. Es wirkt erst in einer Konzentration 1 : 10000 und dann immer herzschädigend. Eine Lösung 1 : 100 bis 1 : 500 macht diastolischen Herzstillstand. Nicht nur am Froschherz, auch am Froschdarm wirkt Histamindihydrochlorid erst in sehr hohen Konzentrationen. Während am isolierten Warmblüterorgan (Meerschweinchenuterus und Meerschweinchen- bzw. Katzendarm) Histamin bereits bei $1 : 10^8$ stark erregend wirkt, reagiert der Froschdarm erst bei gleicher Konzentration wie das Froschherz, d. h. bei $1 : 10^4$. Auch der Froschdarm wird durch Histamindihydrochlorid nie erregt, sondern zeigt immer nur Lähmung. Lösungen in so hoher Konzentration reagieren sauer gegen Lackmus. Die Hemmung nach Histamindihydrochlorid dürfte eine reine Säurewirkung sein. Dies bestätigen folgende Versuche:

1. Eine in ihrer Azidität einer 1%igen Histaminlösung entsprechende Salzsäurelösung zeigt genau dieselbe Wirkung (Abb. 1).
2. Eine mit Natriumcarbonat gegen Lackmus neutralisierte Histamindihydrochloridlösung setzt die Hubhöhe weniger herab; die negativ inotrope Wirkung läßt sich nicht ganz aufheben, weil

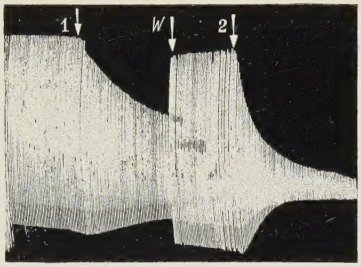
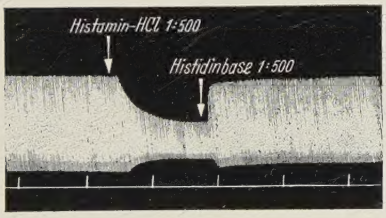


Abb. 1. 1. Histamindihydrochlorid 1 : 1000. *W* = Auswaschen. 2. HCl auf Lackmus entsprechend der Histamindihydrochloridlösung 1 : 1000.



1. Histamindihydrochlorid 1 : 500. 2. Histidinbase 1 : 500.

Abb. 2.
1. Histamindihydrochlorid 1 : 100. 2. Histidinbase 1 : 300.

Natriumcarbonat allein in der benötigten Konzentration ebenfalls die Hubhöhe herabsetzt.

3. Die negativ inotrope Wirkung des Histamindihydrochlorids läßt sich vollkommen aufheben durch Zugabe der alkalischen Histidinbase (Abb. 2). Diese Wirkung des Histidins beruht nicht auf einem Antagonismus zwischen Histamin und Histidin, sondern ist einfach der Ausdruck der Neutralisierung der sauren Histamindihydrochloridlösung

durch die Histidinbase. Denn es gelingt nicht am Meerschweinchendarm, die Histaminwirkung mit Histidin irgendwie zu beeinflussen.

4. Die Histaminbase wirkt anders als das salzsaure Salz. Diese Wirkung der Histaminbase läßt sich durch Histidin nicht beeinflussen.

Versuche mit der Histaminbase.

Die Histaminbase wurde aus dem Histamindihydrochlorid hergestellt. Das Salz wurde mit Soda versetzt, die Lösung im Vakuum eingedampft und die Histaminbase mit Alkohol ausgezogen. Die freie Base wurde am

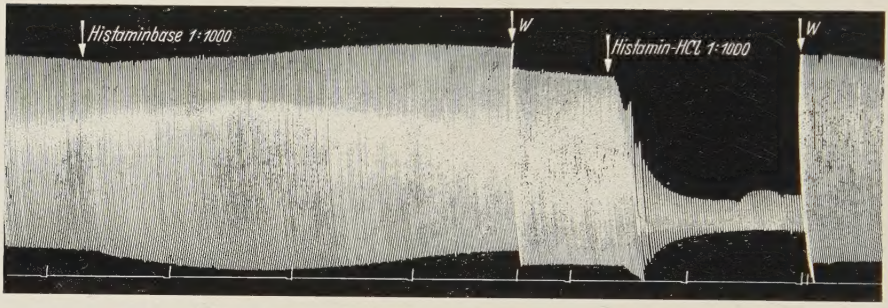


Abb. 3. Histaminbase verglichen mit der Histamindihydrochloridwirkung.

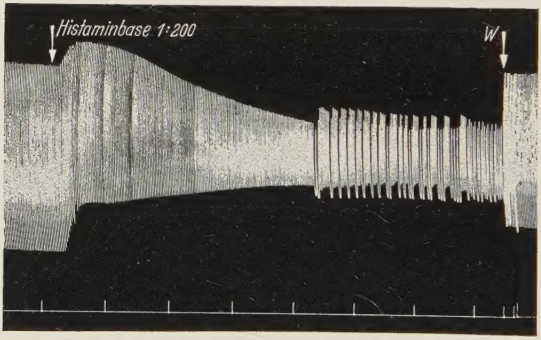


Abb. 4. Histaminbase 1 : 200.

Meerschweinchen auf ihre Wirksamkeit geprüft; 0,5 mg/kg Tier erzeugte einen tödlichen Schock. Die folgenden Versuche wurden mit dieser selbst hergestellten Histaminbase, zur Kontrolle aber auch noch mit einem aus dem Handel bezogenen Präparat, ausgeführt.

Die Histaminbase wirkt in einer Konzentration 1 : 10000 positiv inotrop auf das isolierte Froschherz (Abb. 3).

Die freie Base wirkt also im Gegensatz zum Salz fördernd. Konzentriertere Lösungen 1 : 1000 bis 1 : 100 geben eine charakteristische Kurve (Abb. 4).

Die Base wirkt tonussteigernd, der Fußpunkt der Kurve steigt an, die zuerst bestehende positiv inotrope Wirkung schwindet allmählich, das Herz ändert seinen ursprünglichen Rhythmus, schlägt langsamer aber meist regelmäßig weiter. Die Rhythmusänderung beruht auf einer Reizleitungsstörung: Der Vorhof behält sein Tempo, der Ventrikel aber schlägt in seinem eigenen Rhythmus.

Man könnte diese Wirkung einfach der alkalischen Reaktion der Histaminbase zuschreiben. Natriumbicarbonat oder Natronlauge von gleicher Alkaleszenz wie die Histaminlösung wirken aber am Froschherz

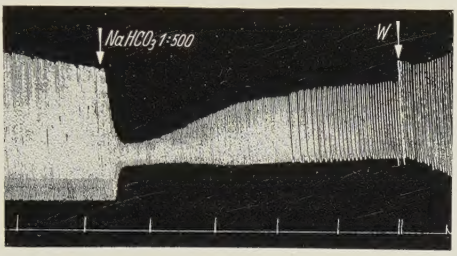


Abb. 5. Natriumbicarbonat 1 : 500.

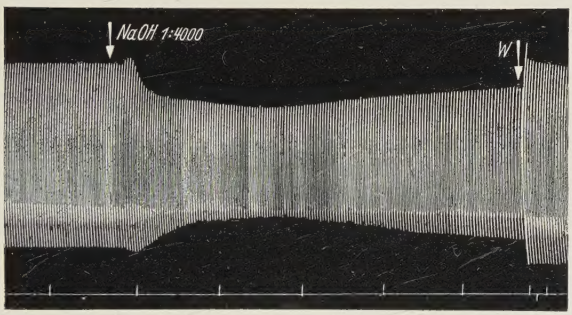


Abb. 6. Natronlauge 1 : 4000.

anders (Abb. 5 und 6). Sie zeigen keine positiv inotrope Wirkung wie die Histaminbase. Der Fußpunkt der Kurve kann ebenfalls ansteigen, zugleich nimmt aber die Hubhöhe stark ab. Auch die typische Rhythmusänderung fehlt.

Ammoniak hingegen wirkt genau wie Histamin in fünf- bis zehnmal schwächerer Lösung (Abb. 7). Ist nun die Histaminwirkung auf frei werdendes Ammoniak zurückzuführen? Die NH_2-Gruppe macht $^1/_7$ des Molekulargewichtes des Histamins aus. Wenn nun tatsächlich aus dem NH_2 entsprechend Ammoniak gebildet würde und als wirksamer Stoff in Frage käme, so wäre das Verhältnis 1 : 5 bis 1 : 10 der Ammoniak-Histaminwirkung verständlich. Nach längerer Einwirkung von Histamin auf das Froschherz läßt sich aber mit Nesslers Reagens kein freier

Ammoniak nachweisen. Auch nach der Methode von Parnas[10] läßt sich kein freier Ammoniak bestimmen.

Trotzdem ist anzunehmen, daß die Histaminwirkung am Froschherz auf der Wirkung der NH_2-Gruppe beruht, deren Effekt qualitativ dem Ammoniak entspricht (Oswald[11, 12], Husemann und Selige[13], Nebelthau[14]). Um diese Annahme zu stützen, sind vergleichsweise noch Amine und Aminosäuren auf ihre Wirkung am Frosch untersucht worden.

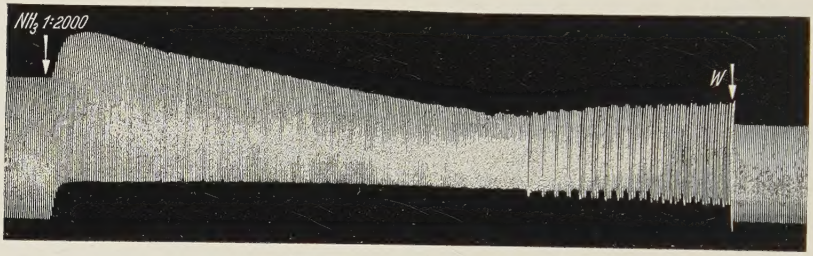


Abb. 7. Ammoniak 1 : 2000.

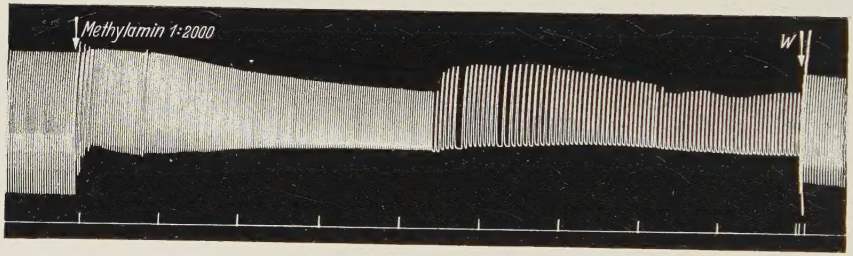


Abb. 8. Methylamin 1 : 2000.

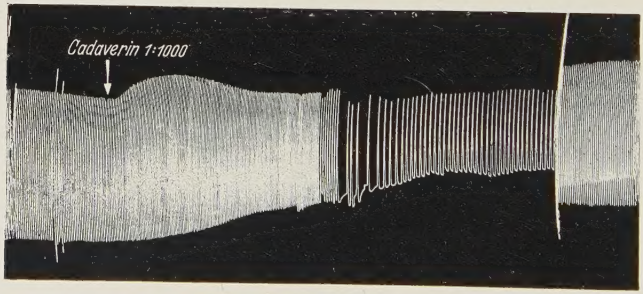


Abb. 9. Cadaverin 1 : 1000.

Die geprüften Amine, wie Methylamin, Cadaverin, Putrescin, Äthylendiamin wirken alle qualitativ wie Histamin und Ammoniak (Abb. 8 und 9), nur quantitativ zeigen sie Unterschiede. Ihr Effekt ist

[10] Parnas u. Heller: Biochem. Z. **152**, 1 (1924.) — [11] Oswald: „Konstitution und Wirkung" 1924, S. 276. — [12] Oswald: Ebenda 1924, S. 124, 213. — [13] Husemann u. Selige: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **6**, 55 (1877). — [14] Nebelthau: Ebenda **36**, 451, (1895).

nämlich um so stärker, je mehr die NH_2-Gruppe im Molekül hervortritt, d. h. je alkalischer die Verbindung reagiert. Auch bei sehr ähnlichem Bau zweier Moleküle richtet sich die Intensität der Wirkung nach dem Grad der Alkalität, wie folgendes Beispiel zeigt: Äthylendiamin reagiert infolge des geringeren Abstandes der beiden NH_2-Gruppen im Molekül — entsprechend der kürzeren aliphatischen Kette zwischen den beiden NH_2-Gruppen — weniger alkalisch als Putrescin und Cadaverin (Epprecht[15]). Es zeigt daher auch entsprechend der geringeren Alkalität eine schwächere Wirkung auf das Froschherz. Der Ammoniakcharakter dieser Amine wird durch die Dissoziationsgleichung

$$CH_3NH_2 + H_2O \longleftrightarrow CH_3NH_3^+ + OH^-$$

verständlich.

Auch die Wirkung der Aminosäuren auf das Froschherz läßt sich mit derjenigen der Amine vergleichen, nur fehlt hier Tonussteigerung und Rhythmusänderung, wie sie für Amine und Ammoniak typisch sind. Hingegen ist noch positiv inotrope Wirkung vorhanden, die lange Zeit gleich stark bleibt und nicht, wie beim typischen Ammoniakeffekt, langsam an Stärke abnimmt. Die einbasischen Aminosäuren wirken qualitativ alle in dieser Weise (Abb. 10, 11, 12, 13, S. 650). In quantitativer Hinsicht besteht aber ein Unterschied, abhängig von der aktuellen Reaktion der betreffenden Aminosäurelösung. Das basische Histidin z. B. wirkt in einer Lösung 1 : 2000 fördernd auf das ermüdete Herz, während das eher sauer reagierende Glykokoll erst bei 1 : 200 wirkt. Zweibasische Aminosäuren zeigen wieder ausgesprochene Ammoniakwirkung. Sie reagieren auch sehr stark alkalisch.

Diese Wirkungen der Aminosäuren lassen sich theoretisch in ähnlicher Weise wie diejenigen der Amine aus der Konkurrenz zwischen Carboxyl- und NH_2-Gruppe erklären, wenn eine Zwitterionbildung ($^+NH_3-R-COO^-$) und daraus abgeleitet eine innere Salzbildung ($H_2N\ \ CH-R$ mit $O-CO$) angenommen wird (vgl. dazu Lehrbücher der org. Chemie). Bei der Ringstrukturformulierung ist die Aminogruppe direkt an die Carboxylgruppe gebunden und verliert dadurch offenbar ihre typischen Eigenschaften, nämlich alkalische Reaktion und Ammoniakwirkung[16, 17]. Ebenso wie die COOH-Gruppe hebt auch die SO_3H-Gruppe die NH_2-Wirkung auf. So hat Taurin, $CH_2NH_2CH_2SO_3H$, die gleiche Wirkung wie einbasische Aminosäuren. Bei den zweibasischen Aminosäuren vermag die Carboxylgruppe nur die Wirkung der einen Aminogruppe aufzuheben, während die zweite NH_2-Gruppe typische Wirkung zeigt.

[15] Epprecht, A.: Über den Einfluß eines Substituenten auf die Acidität einer Säure. Dissertation, Basel 1936. — [16] Fränkel: „Arzneimittelsynthese" 1927, S. 103. — [17] Oswald: „Konstitution und Wirkung" 1924, S. 288, 127.

Das gleiche Verhalten zeigen auch die Säureamide der Formel $R{-}CONH_2$, denn auch hier sitzt die NH_2-Gruppe am Carboxyl. Die Säureamide reagieren daher im allgemeinen weniger alkalisch als die

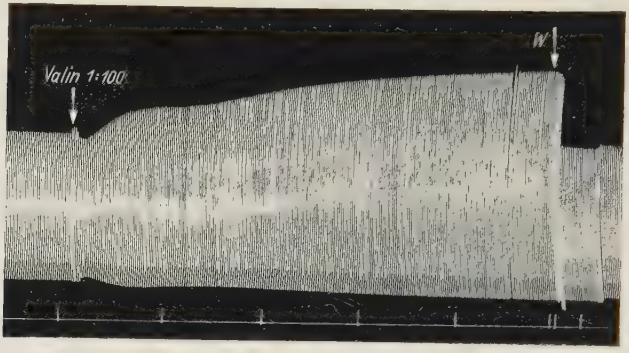


Abb. 10. Valin 1 : 100.

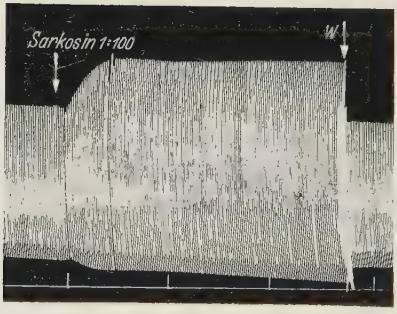


Abb. 11. Sarkosin 1 : 100.

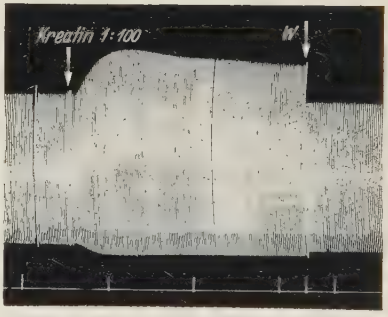


Abb 12.. Kreatin 1 : 100.

Abb. 13. Histidin 1 : 300.

Amine und zeigen geringeren oder keinen Ammoniakcharakter. Auch der Harnstoff, ein Säureamid der hypothetischen Kohlensäure, reagiert neutral, ist chemisch sehr beständig, zeigt am Frosch nicht viel stärkeren Effekt als Aminosäuren und hat wie diese keinen typischen Ammoniak-

charakter. Bei längerer Einwirkung von Harnstoff auf das Froschherz läßt sich auch kein Ammoniak nachweisen.

Findet sich im Amin statt der Carboxylgruppe eine Alkoholgruppe, so besteht wieder stark alkalische Reaktion und Ammoniakwirkung, wie die Versuche mit Colamin ($NH_2CH_2CH_2OH$) zeigen (vgl. Tabelle).

Versuche am Ganztier (Frosch).

Auch am Ganztier (Frosch) ist die Histaminwirkung keine Molekülwirkung. Histaminbase und Histaminsalz unterscheiden sich bezüglich Toxizität nicht. Die tödliche Dosis pro kg Frosch beträgt 1,5 g[8]. Die Dosis ist also 3000mal höher als beim Meerschweinchen. Es besteht keine schockähnliche Reaktion, wie beim Meerschweinchen. Die Allgemeinerscheinungen gleichen eher einer Ammoniakvergiftung. Wird einem Frosch Ammoniak intravenös appliziert[11], so zeigt das Tier zuerst starke Erregung und Reflexsteigerung. Bald nachher wird es ruhiger und gerät allmählich in ein hypnotisches Stadium. Die Atmung ist etwas vertieft, der Unterkiefer führt gähnende Bewegungen aus, das Tier zeigt passive Rückenlage. Die hinteren Extremitäten sind gelähmt. Bei höherer, nicht tödlicher Konzentration, fehlt das Erregungsstadium, es tritt sofort Lähmung auf, die mehrere Stunden anhalten kann. Danach erholt sich das Tier wieder. Das Vergiftungsbild nach Histamin und anderen Aminen ist bei entsprechender Konzentration genau dasjenige der Ammoniakvergiftung. Auch hier geht der Grad der Giftigkeit parallel der Anzahl NH_2-Gruppen und der Alkaleszenz des Amins. Die letale Histamindosis ist dreimal so hoch wie die des Ammoniaks. Methylamin ist ebenso giftig, wie Ammoniak. Putrescin, Cadaverin und Äthylendiaminhydrat entsprechen in ihrer Giftigkeit etwa derjenigen des Histamins, während Ornithin, Lysin und Arginin, die außer 2 NH_2-Gruppen noch eine Carboxylgruppe besitzen zwei- bis dreimal weniger giftig sind. Einbasische Aminosäuren sind, wie am Froschherzen, praktisch unwirksam. Histidin, 50 g/kg Frosch, wird reaktionslos ertragen (bezüglich Konzentration, Herzwirkung, H-Ionenkonzentration und letaler Dosis siehe Tabellen).

Die Wirkung des Histamins auf den Frosch kann also als Ammoniak- und Aminwirkung angesehen werden. Eine spezifische Molekülwirkung des Histamins, wie sie beim Warmblüter besteht, kann beim Frosch nicht nachgewiesen werden. Auch längeres Verweilen des Frosches bei 35° steigert die Histaminempfindlichkeit nicht.

Da der Frosch gegen Histamin nicht empfindlich ist, wie der Warmblüter, gelingt es auch nicht, bei ihm eine Anaphylaxie zu erzeugen (Mezey und Berger[18] und andere).

[18] Mezey u. Berger: Z. f. Immunforsch. **85**, 264 (1935).

Tabelle 1.

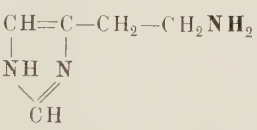
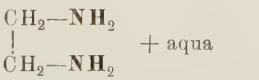
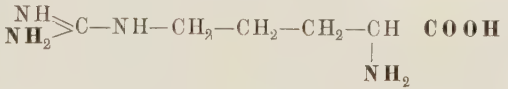
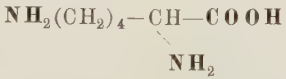
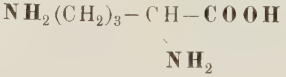
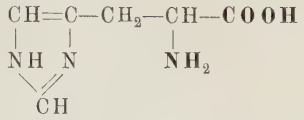
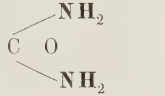
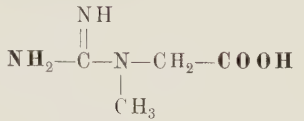
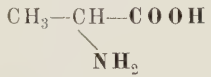
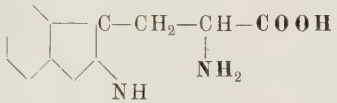
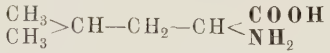
Substanz	Formel	p_H in 1% Lösung	Positiv inotrope Wirkung auf das Froschherz	Negativ chronotrope Wirkung auf das Froschherz	Tödliche Froschdosis g/kg Injektion in Bauchvene
Methylamin	$CH_3\mathbf{NH_2}$	12,2	1:30000	1:2000	0,3—0,5
Ammoniak	NH_3	11,7	1:30000	1:2000	0,5
Cadaverin	$\mathbf{NH_2}(CH_2)_5\mathbf{NH_2}$	10,6	1:20000	1:1000	1,7
Putrescin	$\mathbf{NH_2}(CH_2)_4\mathbf{NH_2}$	10,5	1:20000	1:1000	1,5
Colamin	$\mathbf{NH_2}C_2H_4OH$	10,1	1:20000	1:1000	
Histamin		9,9	1:12000	1: 500	1,5
Äthylendiamin-hydrat		9,8	1:10000	1: 400	1,5
d-Arginin		9,7	1: 5000	1: 200	
d-Lysin		9,4	1: 5000	1:200—1:100	3—4
d-Ornithin		9,3	1: 5000	1:200—1:100	3—4

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Substanz	Formel	p_H in 1% Lösung	Positiv inotrope Wirkung auf das Froschherz	Negativ chronotrope Wirkung auf das Froschherz	Tödliche Froschdosis g/kg Injektion in Bauchvene
l-Histidin		7,2	1 : 2000	keine	50 g nicht tödlich
Harnstoff		7,0	1 : 1000	„	50 g „ „
Kreatin		6,4	1 : 1000	„	50 g „ „
d-Alanin		6,3	1 : 1000	„	50 g „ „
l-Tryptophan		6,2	1 : 500	„	50 g „ „
l-Leucin		6,1	1 : 500	„	50 g „ „
d-Valin		6,1	1 : 500	„	50 g „ „
Taurin	$NH_2—CH_2—CH_2—SO_3H$	6,1	1 : 300	„	50 g „ „
Glykokoll	$NH_2—CH_2—COOH$	6,1	1 : 300	„	50 g „ „

Zusammenfassung.

1. Es wurde die Wirkung des Histamins, verschiedener Amine, Aminosäuren, Amide und des Ammoniaks am Frosch und Straubschen Froschherz vergleichend untersucht.

2. Der Frosch ist auf Histamin praktisch unempfindlich. Erst in 3000mal höheren Dosen als beim Warmblüter hat Histamin am Frosch einen Effekt.

3. Die Wirkung so hoher Dosen des Histamins, wie auch der Amine, wird auf die NH_2-Gruppe zurückgeführt.

4. Die Amine sind um so wirksamer, je mehr NH_2-Gruppen sie besitzen.

5. Die Wirkung der NH_2-Gruppe ist eine Ammoniakwirkung.

6. Auch die Wirkung des Histamins am Frosch ist nur eine Ammoniakwirkung, beruht im Gegensatz zu der Histaminwirkung beim Warmblüter nur auf der NH_2-Gruppe im Molekül und ist kein spezifischer Effekt des ganzen Moleküls.

7. Die Annahme, die Anaphylaxie beruhe auf einer Histaminausschüttung, macht es verständlich, daß der für Histamin unempfindliche Frosch nicht anaphylaktisch gemacht werden kann.

Die Arbeit wurde auf Anregung von Prof. Staub und mit Unterstützung der Roche-Studienstiftung, welche auch die Reinsubstanzen zur Verfügung stellte, durchgeführt.